

N° d'ordre : 134

THESES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

pour obtenir

le titre de Docteur de l'Université de Lyon

(mention Sciences)

par

DENISE BILLET

Licenciée-ès-Sciences

Attachée de Recherches au C. N. R. S.

PREMIÈRE THÈSE

Synthèse de quelques analogues structuraux
du chloramphenicol

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 29 Juin 1953
devant la Commission d'examen

MM. D. CORDIER	Président
J. COLONGE	Examineurs
C. MENTZER	

1953

N° d'ordre : 184

T H E S E S

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE LYON

pour obtenir

le titre de Docteur de l'Université de Lyon

(mention Sciences)

par

DENISE BILLET

Licenciée-ès-Sciences

Attachée de Recherches au C.N.R.S.

-----:-----

Première Thèse

SYNTHESE DE QUELQUES ANALOGUES STRUCTURAUX DU
CHLORAMPHENICOL

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

Soutenues le 29 JUIN 1953 devant la Commission d'examen

M.M. D.CORDIER

Président

J.JOLONGE

C.MENTZER

)
)

Examineurs

===== : =====



UNIVERSITE DE LYON - FACULTE DES SCIENCES

Doyen honoraire

M. LONGCHAMBON

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT
DULAC
VANEY

MM. MEUNIER
SIRE
FROMAGEOT

MM. LOCQUIN
de LARAMBERGUE

Doyen

M. DOUIN

Assesseur

M. EYRAUD , Calcul différentiel et intégral

Professeurs

MM. LONGCHAMBON,	Minéralogie
DOUIN	Botanique
DEJARDIN	Physique
SOLLAUD	Zoologie
THIBAUD	Physique expérimentale
EYRAUD	Calcul différentiel et intégral
THORAL	Géologie
DOEUVRE	Chimie organique
CORDIER	Physiologie
PRETTRE	Chimie industrielle
KUHNER	Botanique
COURTY	Chimie-Physique
MALECOT	Mécanique rationnelle
PARIS	Chimie minérale
AUMERAS	Chimie
BERNARD	Physique
VIRET	Geologie
COLONGE	Chimie

Maître de Conférences honoraire

M. MOURIER des GAYETS

Maîtres de Conférences et chargés de Cours

MM. MEUNIER P.	Chimie biologique	Mme CHAIX	Chimie physiolog.
SCHNELL	Botanique	MM. MENTZER	Chimie biolog.
JANIN	Physique	WAUTIER	Zoologie
MOUSSA	Physique	BRACONNIER	Mathématiques
NIGON	Zoologie	CUEILLERON	Chimie

Chargés de Cours Complémentaires

MM. DUFAY,	Astronomie & Phys.Sup.	MM. GAUTHIER J.	Chimie
PIERRON	Chimie	STRIFFLING	Météorologie
GARRIGUES	Botanique	PELLETIER	Géologie
Mme FIASSON	Zoologie	MAZENOT	Géologie
MM. GAUTHIER H.	Géologie	MURET	Botanique
MESNARD	Physique	FIASSON	Zoologie
PENNANEAC'H	Mathématiques	TRANCHAT	Physique

Secrétaire

M. ROUX.

A Monsieur C. MENTZER

Maître de Conférences de Chimie Biologique
à la Faculté des Sciences de LYON

qui nous guida, dans toutes nos recherches,
de ses conseils éclairés. Nous ne saurions
jamais assez le remercier de sa haute
bienveillance.

En témoignage de notre admiration.

A Monsieur le Professeur Y. RAOUL

Professeur à la Faculté de Pharmacie de PARIS

En témoignage de notre reconnaissance et
du bienveillant accueil qu'il nous a
réservé.

A Monsieur le Professeur P. MEUNIER

Professeur de Chimie Biologique à la Faculté des Sciences de LYON

A qui nous adressons nos sincères remer-
ciements et notre vive gratitude.

A Monsieur le Professeur CORDIER

Professeur de Physiologie à la Faculté des
Sciences de LYON

dont le cours de Physiologie nous fut un
précieux enseignement.

Hommages très respectueux.

A la mémoire de mon Père

A ma Mère

A mes amis et camarades



Digitized by the Internet Archive
in 2026

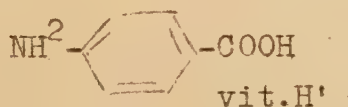
https://archive.org/details/IA41552303_0006

- I N T R O D U C T I O N -

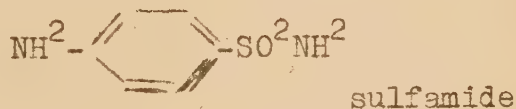
-*-*-*-*-*-*-*-

Depuis les travaux de WOODS (réf.1) et de FILDES(réf.2) qui remontent à une dizaine d'années et furent à l'origine du courant d'idées sur les anti-vitamines, de nombreuses recherches ont porté sur la synthèse de substances proches parentes par leur constitution des vitamines déjà connues. Ce fut FILDES qui, le premier, pressentit l'existence d'une relation structurale entre le produit qu'il réussit à extraire de la levure et les sulfamides dont il inhibait l'action (réf.2). Grâce à une telle hypothèse, un certain nombre de composés chimiques ont pu être examinés en tant qu'antagonistes des sulfamides et l'acide p.amino-benzoïque se montra très actif à ce point de vue. En même temps, FILDES entrevit la portée d'une telle observation et montra la possibilité de compétition entre deux substances antagonistes par l'occupation d'une place importante au sein d'une molécule diastasique .

Ce fut KUHN (réf.3) qui réussit à isoler l'acide p.amino-benzoïque de la levure à l'état pur et à l'identifier avec la vitamine H'. (I).



(I)

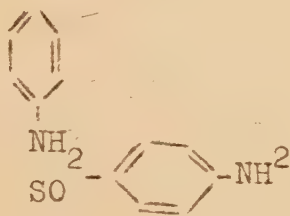


(II)

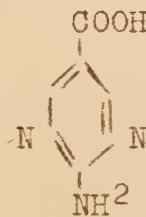
A la suite de ces travaux, il fut reconnu que la substitution d'un groupe sulfoné à un groupe carbonyle ne constitue pas le seul mode de transformation d'une vitamine en son antagoniste; un grand nombre d'autres voies ont été suivies et, au cours de la recherche d'anti-sulfamidés, il est arrivé que les corps synthétisés se soient montrés au contraire doués d'une action vitaminique. C'est ainsi que JOHNSON et ses collaborateurs, en étudiant un groupe d'analogues hétérocycliques de l'acide P.A.B. vis-à-vis de la croissance de E.coli et des streptocoques ont trouvé que l'acide amino-2-pyridine-carbonique 5 (III), possède la même action bactériostatique que le dagénan (IV) (réf.4), alors que l'acide amino-2-pyrimidine carbonique (V) n'est pas un inhibiteur et se comporte même comme une vitamine H' tout en étant 2000 fois moins actif que cette dernière.



(III)



(IV)



(V)

CONSIDERATIONS GENERALES .-

Si nous donnons au terme "vitamine" son sens le plus large, nous pouvons l'appliquer également aux facteurs de croissance qu'il faut ajouter aux milieux de culture pour permettre le développement des micro-organismes.

De cette façon, le nombre des vitamines s'accroît de

jour en jour et il est à prévoir que chacun des constituants non synthétisé de la matière vivante pourra être considéré comme tel au moins pour une, si ce n'est pour plusieurs espèces animales. Il en est ainsi de tous les acides aminés, qui, en tant que facteurs de croissance vis-à-vis de micro-organismes donnés, ont permis l'étude de substances antagonistes par rapport à la souche considérée.

Cette notion d'analogie structurale, qui s'est montrée si féconde dans le domaine des anti-vitamines, a permis, en outre, de fournir parfois des renseignements précieux sur la constitution d'une substance dont l'antagoniste possède une structure déjà établie. La notion d'anti-métabolites essentiels a donc déjà largement contribué à élucider les fonctions métaboliques de certaines substances indispensables au fonctionnement des organismes en tant que constituants structuraux ou termes de passage à certaines bio-synthèses.

En ce qui concerne la découverte de nouveaux agents chimiothérapeutiques, basée sur les principes de FILDÉS (réf.2), il apparaît bien que, malgré les résultats accumulés et les nombreux corps synthétisés, il n'ait pas encore été possible de dégager de loi absolue permettant de prévoir si tel ou tel groupement favorisera l'action vitaminique ou bactéricide ; les mises au point sur cette question ont été décrites ces dernières années par WOOLLEY, WELCH et ROBLIN (réf.6 à II).

Il est toutefois possible, dans tous les cas, d'affirmer grâce à la théorie de la "ressemblance" qu'une propriété physiologique est liée non pas à une substance unique mais à une série de substances de forme analogue. Cette ressemblance

structurale reste donc une hypothèse de travail très précieuse en ce qui concerne la synthèse de substances organiques basée sur le "modèle" d'un métabolite ou d'un inhibiteur de constitution déjà établie. Il n'est pas possible d'énumérer tous les travaux qui ont été réalisés jusqu'ici dans cet ordre d'idées, mais il nous paraît utile d'illustrer par quelques exemples, typiquement choisis, les considérations qui viennent d'être développées, afin de faire ressortir les idées qui ont guidé notre travail et le choix des substances étudiées.

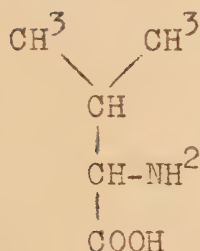
ANTAGONISTES DE METABOLITES ESSENTIELS .-

Les différentes modifications structurales susceptibles d'engendrer le renversement d'action ne peuvent être étendues à tous les métabolites, mais se retrouvent parfois dans une série de substances; il est donc possible d'envisager diverses catégories de changements structuraux, allant d'une transformation importante de la molécule (introduction d'un nouveau groupement) à une différence de configuration qui affecte la substance au niveau stérique (antagonisme entre antipodes optiques).

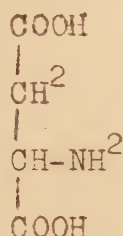
I°)- Antagonisme par substitution d'un groupement différent.

Le type de cet antagonisme devenu le plus classique est représenté par le modèle P.A.B. (I) acide sulfanilique (II) et cet exemple de renversement d'action par remplacement du groupe $-CO$ par le groupe $-SO^2$ a été appliqué à beaucoup d'autres acides aminés. C'est ainsi que la valine (VI) et l'acide aspartique (VII), qui sont des vitamines nécessaires à la multiplication de certains micro-organismes ont des homologues soufrés (acide α amino-iso-

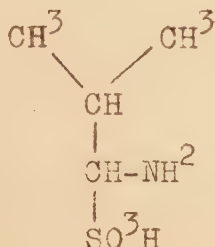
butane-sulfonique) (VIII) (réf. I2) et acide cystéique (IX) (réf. I3) qui inhibent l'activité des dérivés carboxylés correspondants.



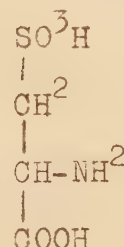
(VI)



(VII)

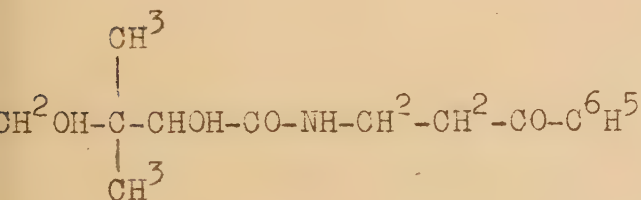


(VIII)

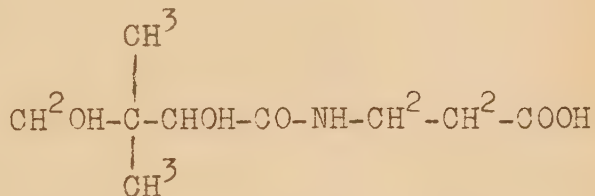


(IX)

La substitution du groupe $-\text{COCH}^3$ au groupe COOH des amino-acides, donne aussi souvent naissance à une substance antagoniste: c'est ainsi que la phényl-pantothénone (X) est un inhibiteur de l'acide pantothénique (XI) (réf. I4), dont il bloque l'incorporation dans le co-enzyme A au cours de la déficience en acide pantothénique de la levure ; on sait le rôle que joue le co-enzyme A dans les phénomènes d'acétylation.



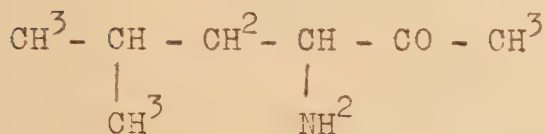
(X)



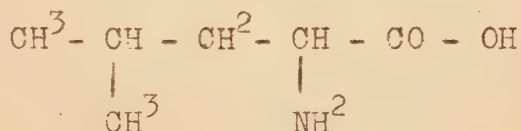
(XI)

A la suite de cet exemple, d'autres amino-cétones ont

été synthétisées et essayées parallèlement aux acides aminés dont ils dérivait par l'école de ERLIENMEYER qui a montré que la 2-méthyl-4 amino-hexanone 5 (XII) qui possède une similitude structurale avec la leucine (XIII) a une action inhibitrice très marquée



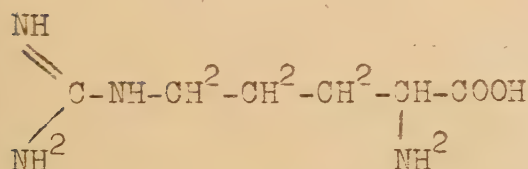
(XII)



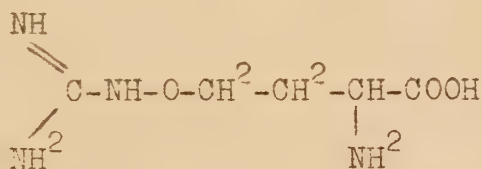
(XIII)

vis-à-vis de la régénération de la queue de la larve *Xenopus laevis* (réf.15)*. Les mêmes auteurs ont préparé toute une série d'amino-cétones dans le but de réaliser des essais physiologiques en tant qu'antagonistes des acides aminés apparentés (réf.16).

La substitution d'un oxygène à un groupement-CH²- réalisé sur l'arginine (XIV) conduit à la canavanine (XV) et cet isostère se montre inhibiteur vis-à-vis de certaines souches sauvages de *neurospora* (réf.17).



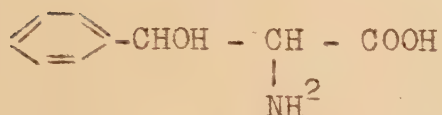
(XIV)



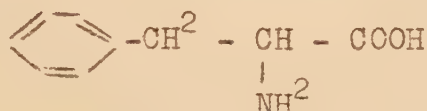
(XV)

* L'action paraît être plutôt histostatique qu'anti-mitotique.

Les acides oxy-aminés constituent parfois des antagonistes des acides aminés correspondants et c'est ainsi que l'acide d .p.hydroxy-aspartique et aspartique ont des effets opposés sur la croissance de E.coli et Leuconostoc mesenteroïdes (réf.I8); de même la β phényl-serine ou β hydroxy-phénylalanine (XVI) empêche la croissance de E.coli, .arabinosus et S.fecalis R pour lesquels la phénylalanine (XVII) est une vitamine (réf.I9).



(XVI)

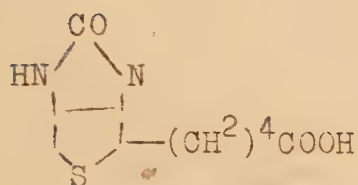


(XVII)

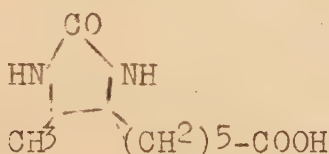
Ce fait a constitué l'un des points de départ de notre travail ainsi que nous l'exposerons plus loin.

Citons encore l'antagonisme entre la β-2 thiényl-alanine et la phénylalanine (réf.9 et II) dans la croissance du B.K. en milieu synthétique LONG (réf.20) et du virus vaccinal cultivé sur tissus de poulet in vitro (réf.21); entre thréonine et sérine pour les bactéries lactiques (réf.22); glutamine et acide glutamique pour S.aureus (réf.23); valine et iso-leucine pour Neurospora (réf.24) et enfin le sulfoxyde de méthionine et l'acide glutamique qui représentent deux structures assez éloignées l'une de l'autre, mais dont l'antagonisme est très net en ce qui concerne la croissance de .arabinosus et casei (réf.5, 25 et 26) et qu'il nous est utile de citer, car il constitue par ailleurs un type d'antagonisme sur lequel nous reviendrons dans la suite de cet exposé.

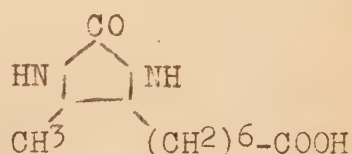
La biotine (XVIII) est un facteur de croissance pour de nombreux êtres vivants et certains sont capables de réaliser sa synthèse à partir de la desthiobiotine (réf.29) (XIX) qui constitue donc, pour ces organismes, une vitamine au même titre que la biotine. Il en va ainsi pour *S. cerevisiae* dont la croissance est accélérée par (XIX) alors que son homologue supérieur, la desthio-homo-biotine (XX) ou acide 5 méthyl, 2 oxo-4 imidazolidine caproïque est un inhibiteur (réf.30 et 31).



(XVIII)



(XIX)



(XX)

2°)- Antagonisme par différence de configuration stérique.-

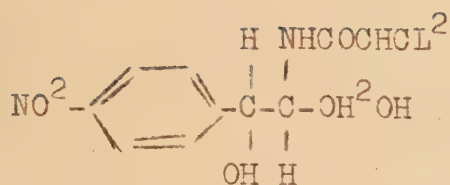
RIVERS et LERNAN (réf.32) avaient déjà montré que les deux isomères optiques de la thyroxine n'ont pas le même comportement et que le dérivé d.présente une activité qui est de 1/8 - 1/10 par rapport à celle du dérivé . Dans un même ordre d'idées, il faut citer l'importance de la configuration du carbone asymétrique du sulfoxyde de méthionine dans la modalité d'action de ce dérivé en tant qu'antagoniste de l'acide

glutamique (réf.25 et 26). Les deux diastéréoisomères ont des activités anti-glutamique différentes. Un antagonisme plus net apparaît entre la l.isoleucine et la d.isoleucine, cette dernière inhibant la croissance de certains micro-organismes de la famille des Entérobactériacées (Salmonellae, E.coli, S.dysenteriae) (réf.33). Une constatation du même ordre a été faite par DAVIS et MAAS (réf.34), qui ont mis en évidence le fait suivant : la d.sérine retarde notablement la croissance de E.coli à partir de 5 par cc. de milieu de culture alors que son antipode optique, la .sérine est sans action, même à 200 par cc.

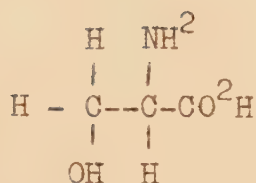
HYPOTHESES DE TRAVAIL EN VUE DE LA RECHERCHE D'ANALOGUES STRUCTURAUX.

Partant de ces faits , nous nous sommes attachés à l'étude structurale de la chloromycétine .

Ce nouvel anti-biotique dont la constitution a été établie par CONTROULIS, REBSTOCK et CROOKS (réf.35) peut être considéré comme un dérivé de la d.sérine auquel il s'apparente par le même squelette carboné ainsi que le font ressortir les schémas (XXI) et (XXII) .



(XXI)



(XXII)

D(-) thréo - 2 dichloracétamino

D - sérine

p - nitro phényl-1-3-propane diol

Ce rapprochement de structure, mis en évidence par MM. MENTZER et MEUNIER dans notre laboratoire, constituait une hypothèse de travail très précieuse et c'est la validité d'une telle analogie que nous avons été chargés de contrôler.

Par l'édification de substances gardant le même squelette carboné mais auxquelles nous avons apporté des modifications structurales, les apparentant de proche en proche à la chloromycétine, il a été possible de vérifier dans quelle mesure cet antibiotique est une d.sérine plus puissante.

Avant de commencer notre exposé, nous voudrions exprimer notre reconnaissance à Messieurs les Professeurs CORDIER, COLONGE et MENTZER pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de juger ce travail.

Nous remercions tout particulièrement Monsieur le Professeur MEUNIER pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire où nous avons toujours trouvé une atmosphère de confiance, d'enthousiasme et d'optimisme qu'il nous est agréable de pouvoir souligner ici. Nous lui sommes aussi reconnaissante de la bienveillance qu'il nous a témoignée auprès de Monsieur le Professeur JAVILLIER grâce auquel ce travail a pu être soutenu et publié partiellement.

Monsieur MENTZER, Maître de Conférences, a trop largement contribué à l'orientation générale de notre culture dans les sciences pharmacologiques, pour que nous ne profitions pas de la circonstance qui s'offre à nous aujourd'hui, de lui manifester nos sentiments reconnaissants.

Nous voudrions aussi exprimer notre gratitude à Monsieur le Professeur RAOUL qui a bien voulu s'intéresser à ce travail et nous permettre de poursuivre, aujourd'hui, ces recherches, dans son laboratoire de la Faculté de Pharmacie de Paris.

Merci également à nos amis et camarades Monsieur

et Madame D.MOLHO, Monsieur DODIN du laboratoire du Professeur SOHIER, Mademoiselle MARNAY, pour leur collaboration sur le plan bio-chimique, Monsieur BARBET, pour l'aide qu'il nous a apportée dans la synthèse de certains composés organiques, à Madame FATIANOFF pour sa compétence bibliographique. Les micro-analyses ont été effectuées sous la direction de Messieurs les Professeurs SANNIÉ et DUPONT, de Monsieur E.KAHANE, aux laboratoires de chimie organique du Muséum et de l'Ecole Normale et au Centre de micro-analyses du C.N.R.S.

Nous exprimons notre reconnaissance au Centre National de la Recherche Scientifique, grâce auquel nous avons pu mener ces recherches, ainsi qu'aux Laboratoires ROUSSEL (I.S.H.) pour leur aide matérielle.

A tous ces organismes, nous adressons nos meilleurs remerciements.

=====

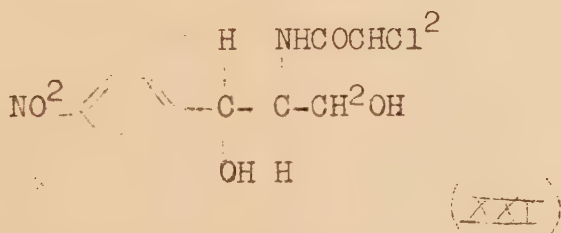
CHAPITRE I

ESSAIS de SYNTHÈSE du CHLORAMPHENICOL

CHAPITRE I

ESSAIS de SYNTHÈSE du CHLORAMPHENICOL

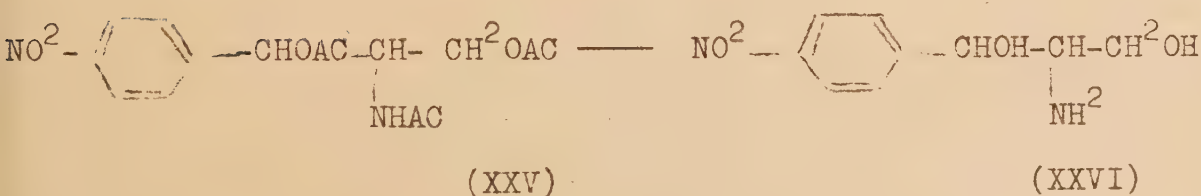
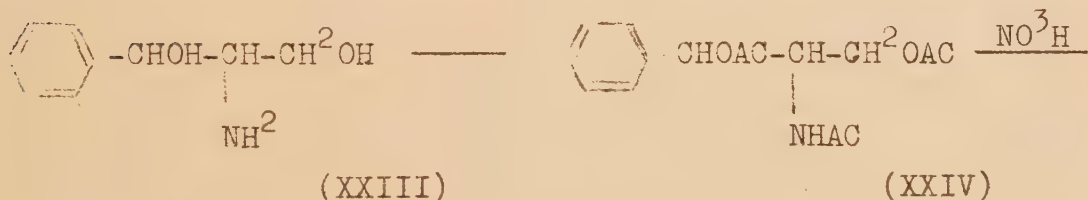
Dès 1947, la chloromycétine avait été isolée des champignons actinomycètes et le composé avait suscité un grand intérêt, étant donné son efficacité dans les maladies du genre typhus, typhoïde et fièvres éruptives des montagnes rocheuses. Sa structure fut annoncée, quelque temps après, dans une publication de H.CROOKS, Jr.MILDRED REBSTOCK, BARTZ et CONTROULIS (réf.58), comme étant un D.thréo-2-dichloracétamino 1 p.nitro phényl 1-3-propanediol (XXI)



La structure du chloramphénicol est inhabituelle pour un composé organique naturel: non seulement il contient un groupe aromatique nitré, mais c'est un dérivé de l'acide dichloracétique. Aucune de ces caractéristiques structurales n'avait été trouvée auparavant dans un composé naturel: le groupe nitro, qui avait été considéré comme toxique pour l'organisme, s'est révélé pratiquement inoffensif dans cet antibiotique d'après les doses administrées à l'homme au cours de la lutte contre les maladies précitées. Aujourd'hui, la chloromycétine est

utilisée dans le monde entier et sur une échelle très large, grâce à la possibilité d'obtention par voie synthétique et aux résultats encourageants qu'elle a apportés dans toutes les affections d'origine dysentérique. D'après les recherches actuelles, il semble que ce composé présente un pouvoir bactéricide vis-à-vis des germes ne prenant pas la coloration de Gram: Shigellac, Salmonellae, bacilles du groupe coli (réf.59).

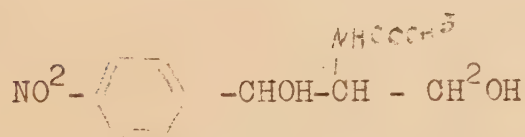
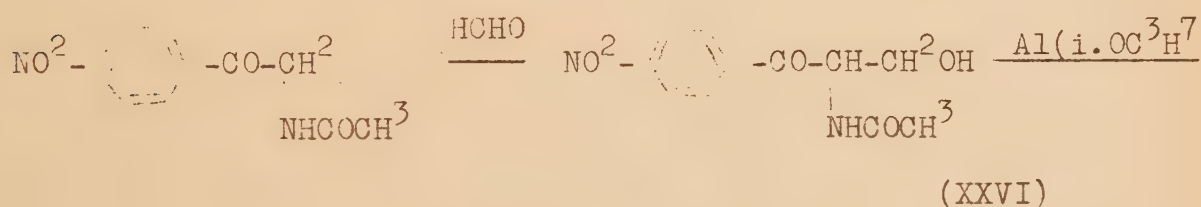
La première synthèse effectuée par CROOKS, REBSTOCK et CONTROULIS (département de recherches scientifiques de la Société PARKE DAVIS et C^o) faisait appel à des matières premières assez difficiles d'accès: elle consistait à condenser le β nitro-éthanol avec le benzaldéhyde pour former un 1-phényl-2-nitro, 1-3 propanediol (XXII) qui, hydrogéné (XXIII), puis tri-acétylé (XXIV), pouvait être nitré (XXV) alors qu'une hydrolyse finale (XXVI) suivie d'une dichloracétylation conduisait enfin au produit voulu (réf.40)





(chloromycétine ou chloramphénicol)

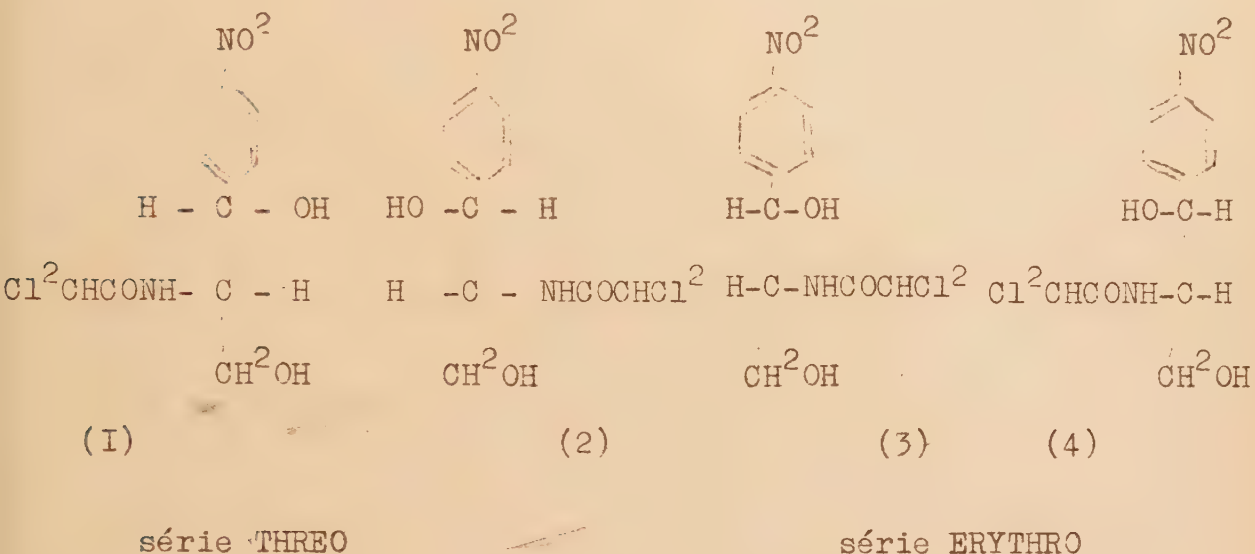
Plus tard, LONG et TROUTMAN décrivent une synthèse (ré.61), plus facile, basée sur la condensation d'une α acyl-amino-p.nitro-acétophénone avec le formol. L' α -acyl-amino- β -hydroxy-propriophénone (XXVI), qui prend naissance, est soumise à une réduction catalytique, qui conduit aux deux racémates de 2-acylamino 1 phényl - 3-propanediol (XXVII), précédemment obtenu par la méthode de CONTROULIS et REBSTOCK. Les dernières étapes, qui restent à franchir pour obtenir l'antibiotique, sont celles décrites précédemment.



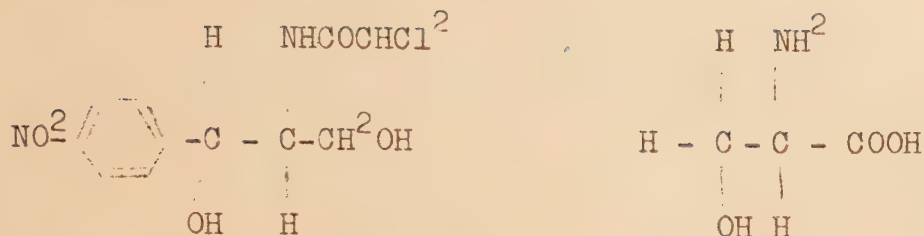
Citons enfin une synthèse originale parue récemment: celle de Funke et Kornmann (réf.53) utilisant un acétal cyclique comme matière première de départ et permettant d'accéder à la chloromycétine en trois étapes.

Ces synthèses ont permis de vérifier la structure du

chloramphénicol. Au cours de ces préparations, les deux isomères thréo et érythro ont été isolés et chacun de ces racémiques dédoublé en ses énantiomorphes (formes D. et L.). Les quatre structures du dérivé anti-typhique peuvent être représentées suivant::



Parmi ces quatre composés, un seul a pu être identifié avec le composé naturel d'après le degré d'inhibition de la croissance du *S. paradysenteriae* (souche de Sonn). L'isomère actif s'apparente à la série thréo et le mélange racémique (1+2), qui se forme au cours de la préparation par voie synthétique, a une activité de 50 % par rapport au dérivé dédoublé. En considérant la formule du chloramphénicol, il est possible d'établir une analogie structurale avec celle d'un acide aminé dont la disposition des atomes formant le squelette carboné est le même et qui n'est autre que la D.sérine, ainsi que le font ressortir les schémas suivants :



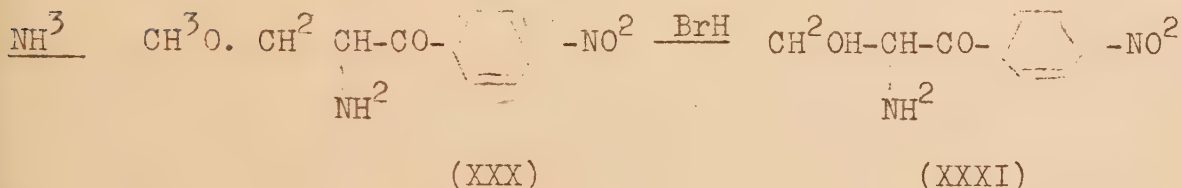
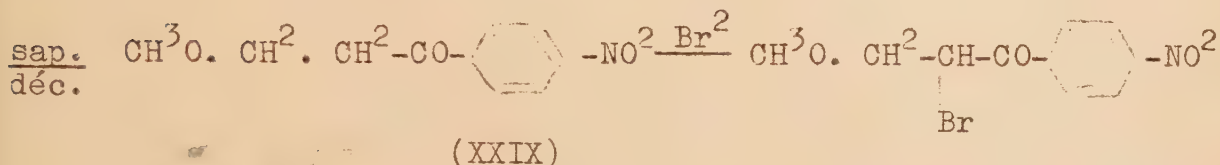
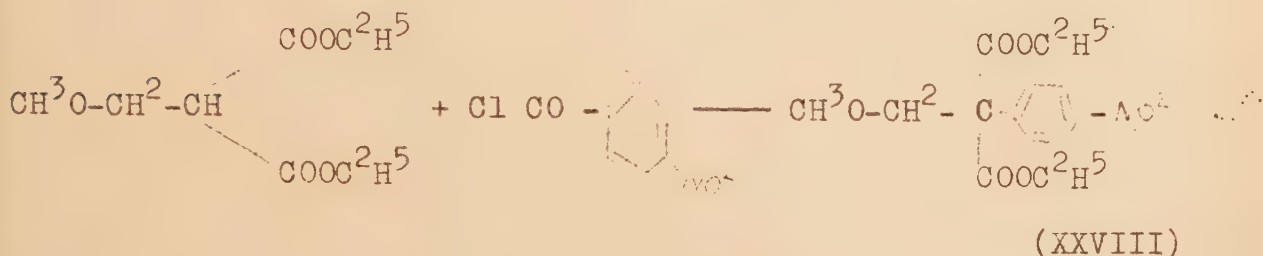
Cette hypothèse est étayée par le fait que la d.sérine retarde notablement la croissance de E.coli ainsi que nous l'avons mentionné au cours de notre exposé préliminaire sur les inhibiteurs par compétition de structure avec un métabolite essentiel. Or, les bacilles du groupe Coli appartiennent à la même famille que les Shigellae, Salmonellae, ainsi que typhiques et paratyphiques et sont antagonisés par les mêmes substances, étant sensibles aux mêmes anti-biotiques.

Nous avons entrepris la synthèse de substances de constitution intermédiaire entre la sérine et la chloromycétine, basée sur des considérations d'analogie structurale.

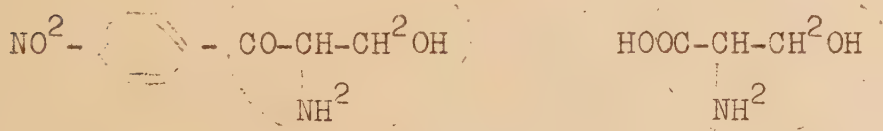
Ier PROJET :

Une première possibilité de synthèse consistait à condenser le chlorure de p.nitro-benzoyle avec le méthoxyméthylène-malonate d'éthyle, ce dernier obtenu par la méthode de SIMONSEN(réf.62) (condensation du chlorométhylé de l'alcool méthylique avec le malonate d'éthyle); la composé formé(XXVIII) devait être saponifié et décarboxylé en (XXIX), dérivé qui, par bromuration, puis fixation d'ammoniac, permettait d'aboutir à (XXX), dont la déméthoxylation donnait naissance à un analogue structural de la chloromycétine et de la sérine. L'analogie

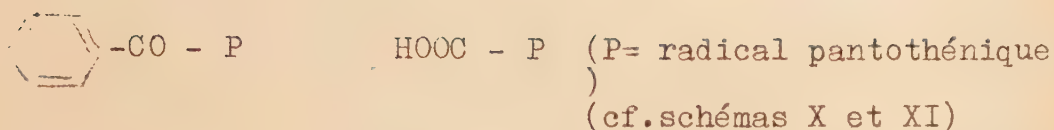
structurale entre (XXXI) et la sérine peut se comparer à celle qui existe entre l'acide pantothénique et la phényl-pantothénone (schémas XI et X de l'introduction):



En effet, (XXXI) ne diffère de la sérine que par la substitution du radical p.nitrobenzoyl $\text{Ar}-\text{NO}^2$ au groupe OH du carboxyle:

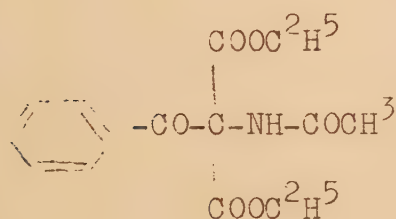


de même que la phényl-pantothénone est issue de l'acide pantothénique par une transformation analogue :

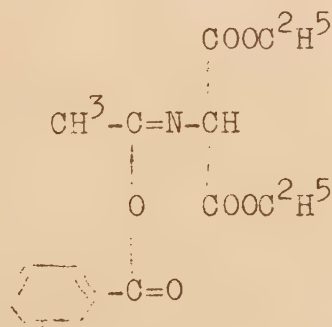


La première condensation a été effectuée en milieu étheré au moyen de l'alcoolate de sodium selon une technique décrite par BÜLOW (réf.63), pour le chlorure de p.nitro-benzoyle et le malonate d'éthyle. Ce procédé nous a permis d'obtenir une substance bien cristallisée (XXVIII) et dont le point de fusion très bas (42°) n'est pas surprenant pour un éther aussi ramifié. Toutefois, l'hydrolyse ultérieure ne s'est pas effectuée selon le schéma indiqué précédemment, mais a provoqué une coupure au niveau du groupe-CO qui n'a permis que de récupérer l'acide para-nitro-benzoïque, et ceci dans tous les cas, même en utilisant les moyens d'hydrolyse les plus doux (alcoolate de sodium, opérations à froid).

Depuis, VISCONTINI a échoué dans la saponification d'un produit proche, issu de la condensation entre le chlorure de benzoyle et l'acétamido-malonate d'éthyle, montrant qu'il se forme non pas le di-ester (LIX) mais plutôt l'isomère (LX)



(LIX)

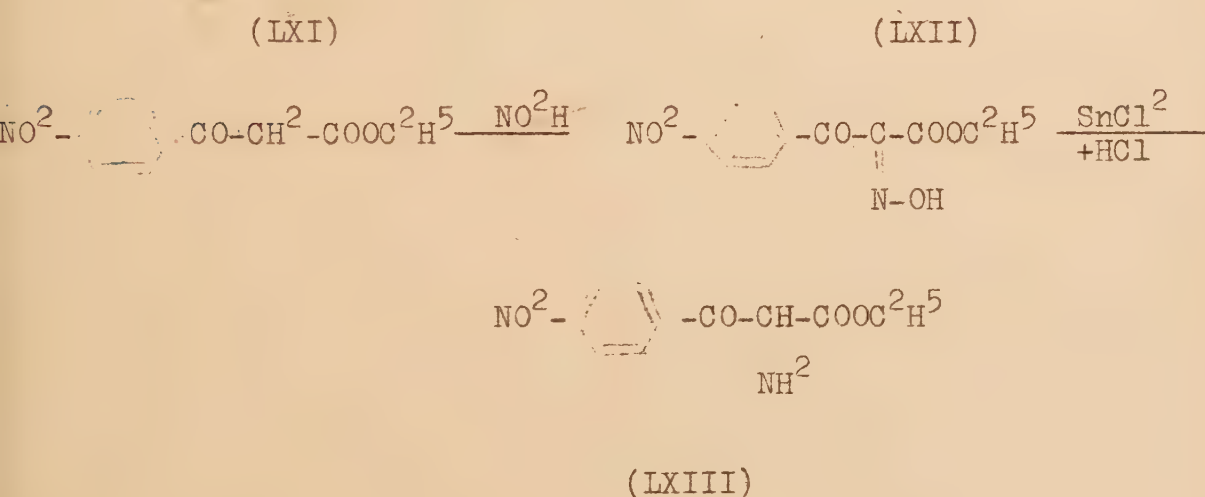


(LX)

(réf.27)

2ème PROJET:

Afin de partir d'une chaîne déjà plus longue, nous avons utilisé comme matière première le p.nitro-benzoyl-acétate d'éthyle, préparé selon BÜLOW (réf.63), que nous avons transformé en dérivé nitrosé (LIX) d'après la technique indiquée par PERKIN, qui a préparé ce corps (réf.64). Nous avons produit l'acide nitreux naissant conformément aux instructions données par "Org.Syn." (réf.65). Nous pensions pouvoir réduire le dérivé nitrosé en amine (LIX) à l'aide du chlorure stanneux et de HCl selon la technique employée par GRANÄCHER pour le dérivé non nitré correspondant (réf.66). Ces réactions peuvent se traduire par le schéma suivant :



Cette opération de réduction en amine ne nous a pas permis d'aboutir au produit recherché et le dérivé iso-nitrosé s'est décomposé en redonnant dans tous les cas l'acide p-nitro-benzoïque.

Depuis, VISCONTINI a réussi des réductions semblables



en utilisant Al H^4 comme agent réducteur, mais cet auteur n'a tenté que la réduction du iso-nitrosobenzoylacétate d'éthyle sans étendre cette réaction au dérivé para-nitré. En opérant à chaud, et en présence d'un excès de réducteur il a pu obtenir le phénylserinol (réf.28).

Signalons également le travail postérieur au nôtre de ELPHIMOFF-FELKIN, TCHOUBAR et WELVART (réf.54) concernant la réduction du même iso-nitrosobenzoylacétate pour lequel ces auteurs ont rencontré des difficultés. Il n'est donc pas surprenant que la réduction que nous avons tentée sur le dérivé para-nitré n'ait pu aboutir.

A la suite de ces échecs, nous avons orienté notre travail vers la synthèse d'analogues structuraux de la chloromycétine dans le groupe des phényl-serines et para-nitro phényl-serines, acides aminés structuralement apparentés au chloramphenicol.



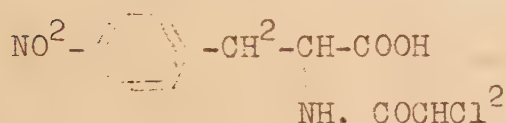
CHAPITRE II

PHENYL-SERINES et DÉRIVÉS SUBSTITUÉS

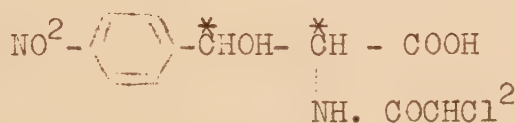
CHAPITRE II

PHENYL-SERINES et DÉRIVÉS SUBSTITUÉS

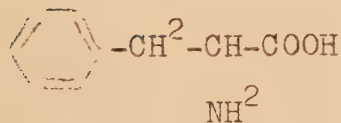
La synthèse de substances présentant un atome de carbone asymétrique dans la chaîne propylique nous a amenés à étudier la phényl-serine (LXVI) et la p.nitro-phénylserine (LXV) qui dérivent respectivement de la phényl-alanine (LXIII) et de la β-hydroxy-



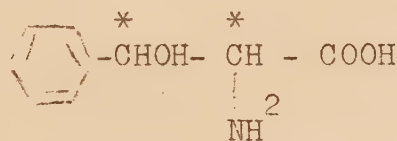
(LXIV)



(LXV)



(LXIII)



(LXVI)

phénylalanine (LXVI) appelée aussi β-phényl-sérine. La phényl-alanine est un acide aminé essentiel, pouvant être considéré comme facteur de croissance indispensable et qui est antagonisé par la β-phényl-sérine, substance jouant à son égard le rôle

d'un inhibiteur de structure (réf.19).

D'autre part, la présence de carbones asymétriques dans la chaîne propylique paraît être une condition importante au pouvoir antibiotique des substances de cette série; or, la phényl-sérine possède ces carbones asymétriques de par la présence, au milieu de la chaîne, de la fonction CHOH(désignés par un astérisque sur la formule). Ajoutons, enfin, que des travaux biologiques récents nous ont amenés à constater une similitude d'action vis-à-vis de la croissance de E.Coli entre la chloromycétine, la sérine et la phényl-sérine(réf.69) (travaux effectués dans notre laboratoire par Mme L.MOLHO). Tous ces faits nous ont incités à penser que la phényl-sérine représente une forme plus active que la sérine du point de vue antibiotique et que la similitude structurale plus étroite avec le chloramphénicol mérite une étude approfondie des substances de cette série.

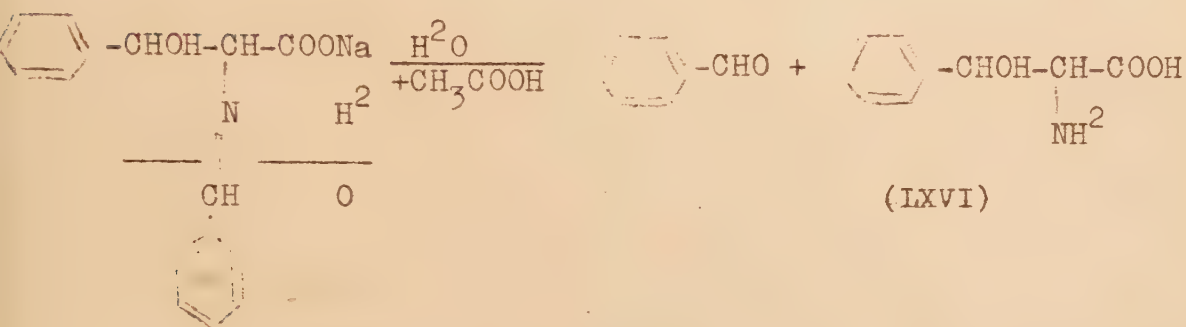
I°)- PHENYL-SERINES -

La condensation du glycolle et du benzaldéhyde en milieu anhydre donne naissance à une azlactone selon le procédé d'ERLENMEYER, que nous avons appliqué à l'ald.p.nitro-benzoïque. En milieu aqueux, cette même condensation ne conduit pas à un corps cyclique, mais directement à un acide oxy-aminé c'est-à-dire qu'il n'y a pas lactonisation et qu'il se forme ainsi la phényl-sérine:



(LXVI)

En utilisant ce mode de synthèse, nous avons préparé la β phényl-sérine par la méthode d'ERLENMEYER(réf.70), améliorée par FORSTER et RAO (réf.71). On opère en milieu alcalin de sorte qu'il se forme intermédiairement la base de Schiff sous forme de son sel de sodium qui, dissous dans l'eau et traité par l'acide acétique, libère la phényl-sérine selon:

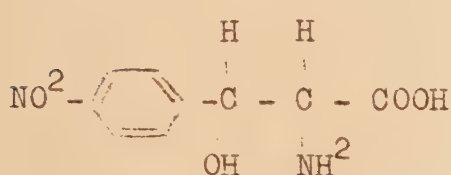


Cet amino-acide manifeste donc une légère action inhibitrice vis-à-vis des cultures de E.coli et son action semble être qualitativement* de même nature que celle du chloramphénicol. Ce résultat biologique encourageant nous a incités à préparer le dérivé p.nitré de la β phényl-sérine afin de nous rapprocher de la constitution de la chloromycétine. Nous avons utilisé tout d'abord la synthèse de ROSENMUND et DORNSAFT (réf. 72), appliquée par DALGLIESH (réf.45) au p.nitro-benzaldéhyde et qui consiste à condenser celui-ci avec le glycocollate d'éthyle au sein de l'éther anhydre au moyen du sodium. Il se forme, dans ces conditions, selon cet auteur, une base de Schiff (LXVIII) qui se transforme en oxazolidine (LXIX) dont l'hydrolyse conduit à l'ester (LXX) puis, par saponification de ce dernier, à l'acide aminé recherché (LXV).

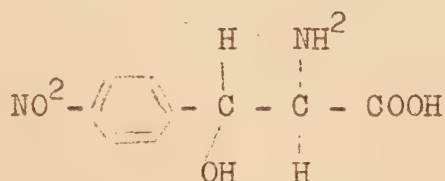
* tout en étant moins intense du point de vue quantitatif.

expliqué antérieurement, seuls les composés possédant la configuration "thréo" manifestent une action vis-à-vis de culture de *S. paradysenteriae* (réf.74).

La forme isomère "thréo" de la p.nitro-phényl-sérine serait représentée par (LXVII t.)



(LXVII e)

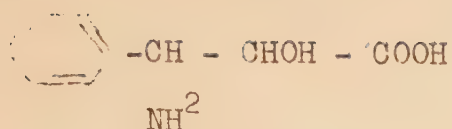


(LXVII t)

Cette hypothèse aurait été appuyée par le fait que, dans la chaîne des réactions précédentes, la p.nitro-phényl-sérine se formerait à partir d'une oxazolidine (LXIX), dont l'arrangement spatial des groupements plaide en faveur de la configuration "érythro".

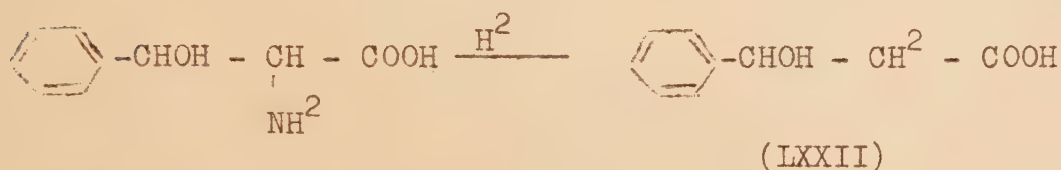
2°) CONFIGURATION STERIQUE DE LA β PHENYL-SERINE -

Etant donné que l'acide aminé non nitré préparé antérieurement (LXVI) s'était montré plus actif que (LXVII) du point de vue anti-biotique, nous nous sommes alors demandé si le pouvoir bactéricide décelé était également lié à sa configuration stérique. Jusqu'ici, des recherches concernant la stéréochimie de cet acide aminé n'avaient pas encore abouti: étant donné qu'il a pu être démontré que la soi-disant "cis-phényl-sérine" décrite par FORSTER et RAO (réf.71) est en réalité un isomère de position répondant à la formule: (LXXI)



(LXXI)

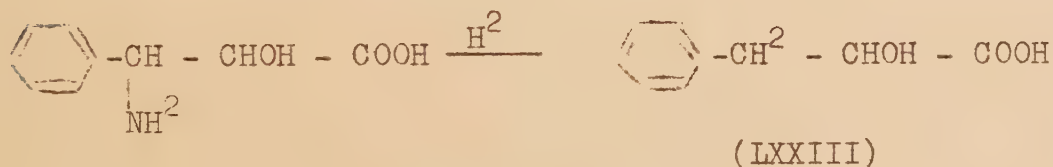
c'est-à-dire un acide β aminé. En effet, la réduction de la phényl-sérine (LXVI) par le palladium en présence de tétraline conduit à l'acide β phényl- β -oxy-propionique (LXXII) selon:



tandis que la distillation sèche produit du benzaldéhyde :



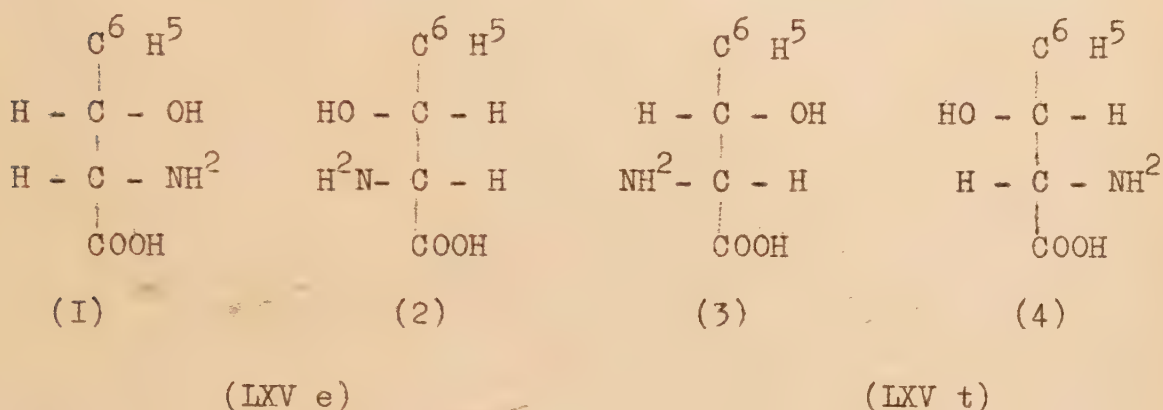
Dans le cas de la phényl-iso-sérine (LXXI), la même réduction donne l'acide phényl-lactique (LXXIII): ou α oxy- β -phényl-propionique



et la distillation sèche, la propiophénone :



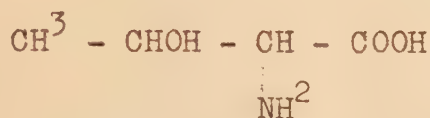
Dans le cas qui nous occupe, il s'agit uniquement de la phényl-sérine(LXV). Théoriquement, celle-ci, grâce à la présence de 2 carbones asymétriques, peut exister sous quatre formes isomères (LXV-e I et 2 - LXV-t 3 et 4)



Les structures (LXV e) correspondent aux 2 isomères érythro, les structures (LXV t), aux isomères thréo. Jusqu'à présent, une seule des formes a été préparée et les recherches de ÖSTERLIN (réf.76), puis FOURNEAU (réf.75), ont permis d'établir que les auteurs ayant cru isoler plusieurs formes stéréoisomères, n'ont eu, en réalité, entre les mains que des phényl-iso-sérines (LXXI) ainsi qu'il vient d'être mentionné plus haut.

Au moment où nous avons entrepris ce travail la seule préparation décrite dans la littérature concernant la phényl-sérine était celle de FORSTER et RAO (réf.71) inspirée de ERLÉNMEYER (réf.70). Un brevet allemand a perfectionné la technique de ces auteurs (réf.90).

La détermination de la structure de la β -phényl-sérine, préparée selon FORSTER et RAO, permettait donc de fixer si la forme active appartenait à la série "THREO" (t) ou "ERYTHRO" (e). Une telle recherche de détermination de structure avait déjà été faite sur un acide oxy-aminé, la "Thréonine" ou méthyl-sérine (LXXIV).

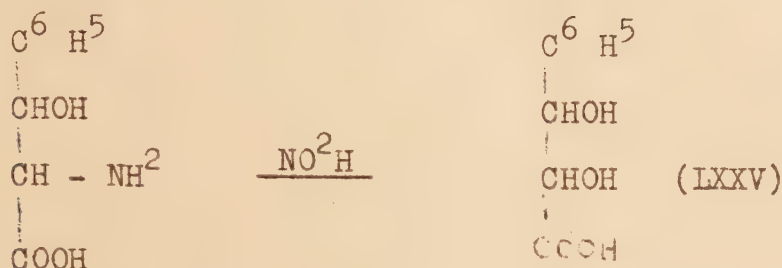


(LXXIV).

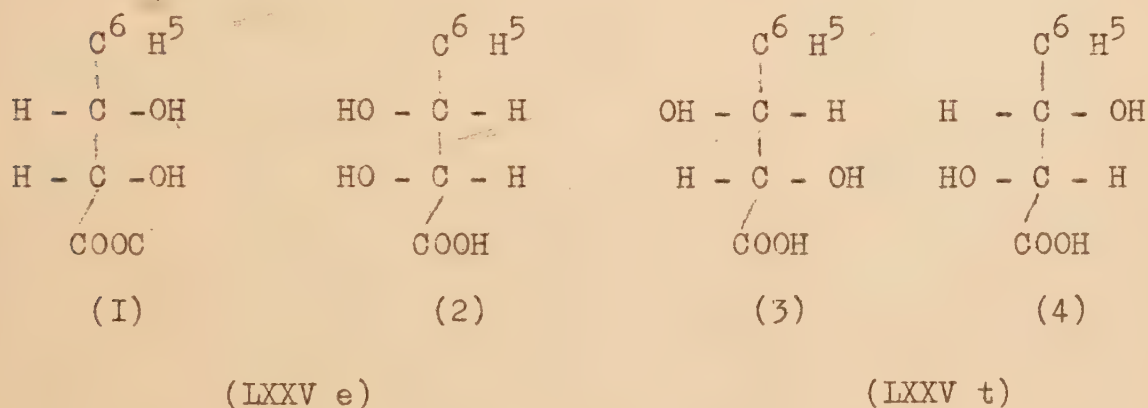
dont la forme naturelle a été reconnue comme appartenant à la série thréo (d'où son nom) et se range parmi les acides aminés indispensables. Les auteurs qui ont réalisé ce travail, MEYER et ROSE (réf.77), ont opéré comme suit: ils ont transformé cet amino-acide en acide di-oxy-butyrique par oxydation nitreuse; il est connu que, d'une façon générale, l'acide nitreux ne provoque pas d'inversion de WALDEN (réf.78), de sorte que l'acide glycérique auquel conduit cette oxydation possède la même structure stéréo-isomérique que l'acide aminé de départ. C'est ainsi que, par ce procédé, MEYER et ROSE, avant obtenu un acide dioxybutyrique appartenant à la série Thréo, ont pu établir la configuration stérique "Thréo" de la forme naturelle de la thréonine.

Les oxydations déjà tentées sur la phényl-sérine n'ont jamais conduit qu'à la benzaldéhyde ou l'acide benzoïque, parce que les agents oxydants utilisés étaient probablement trop brutaux ($\text{Mn O}^4\text{K}$, $\text{Fe Cy}^6\text{K}^4$ ou $\text{Cr O}^4\text{K}^2$) et provoquaient toujours la coupure de la molécule (réf.75). En appliquant les données de MEYER et ROSE à la phényl-sérine, nous avons traité cet acide aminé par l'acide nitreux qui, théoriquement, doit conduire à

l'acide β -phényl-glycérique selon : (LXXV)



Les acides β phényl-glycériques existent, comme la β phényl-sérine, sous quatre formes isomères: LXXV e (1 et 2) LXXV t (3 et 4) et les deux racémiques déjà décrites dans la littérature, possèdent des points de fusion différents permettant l'identification:



Ces acides ont été préparés jusqu'ici par oxydation de l'acide α chlor- β oxy β phényl-propionique (réf.79). La cristallisation de cet acide est très difficile par suite de sa grande solubilité dans l'eau avec laquelle il forme un sirop: cependant, après plusieurs jours, nous avons pu obtenir des cristaux répondant au point de fusion de l'acide thréo- β -phényl-glycérique (141°). Ajoutons, cependant, que cet acide s'est formé en faible quantité et nous permet seulement de conclure que la phényl-

sérine, préparée par la méthode de FORSTER et RAO, contient la forme "thréo". Pour apporter une preuve supplémentaire à la formation de cet acide, nous en avons préparé la phényl-hydrazide(*), substance également connue ainsi que son isomère érythro, préparés antérieurement par PLÖCHL et MAYER (réf.80, 81,82) et dont les points de fusion sont encore plus éloignés l'un de l'autre que ceux des acides de départ. En effet , l'hydrazide thréo obtenue fondait bien à 215° comme l'indiquent PLÖCHL et MAYER, alors que son isomère érythro fond à 177°. A la suite de ce travail, nous pensons pouvoir expliquer la similitude d'action biologique entre la phényl-sérine et la chloromycétine par une analogie structurale, qui permet de ranger l'acide aminé parmi les substances dont nous nous étions proposé l'étude (réf.83).

Depuis, ce travail a été confirmé par différents auteurs par des voies diverses : VOGLER(réf.36) par dégradation des deux isomères optiques en acide (+) mandélique et en L (-) phényl-alanine ; FOX et SHAW (réf.37 et 94) par réduction en phényl-serinol ; CARRARA et coll.(réf.38) en utilisant cette phénylsérine comme matière première dans la synthèse de la chloromycétine ; ALBERTI, CAMERINO et VERCELLONE par nitration de l'ester éthylique di-acétylé et comparaison avec le même dérivé issu de la chaîne de réactions de synthèse du chloramphenicol; ELPHIMOFF-FELKIN et coll. en préparant une phényl-sérine différente de celle obtenue selon ERLÉNMEYER et donnant par réduction un phénylserinol erythro (réf.39 et 54).

Citons aussi, dans les travaux parus récemment l'annonce d'une nouvelle synthèse de l'erythro β phenylserine par VISCONTINI (réf.74) selon un procédé différent de celui utilisé par FELKIN, une publication de W. BOLHOFER se rapportant égale-

* $C^6H^5 - CHOH - CHOH - CONH - NH - C^6H^5$

ment à une synthèse originale de l'erythro β phenylserine et confirmant sa configuration par nitration (réf.79); enfin une différenciation biologique entre les deux stéréo-isomères signalée par FONES (réf.88); la dégradation oxydative en acides mandéliques à l'aide du venin de crotalus adamanteus conduisant respectivement pour le dérivé thréo à l'acide D-mandélique

(α D = -151°) et pour le dérivé érythro à l'acide L
 (α D + 156°) (réf.88).

3°) P.NITRO-PHENYL-SERINES -

La détermination de structure stéréochimique effectuée sur la phényl-sérine n'a pu être actuellement étendue à la p. nitro-phényl-sérine obtenue selon le procédé de DALGLIESH, ce qui aurait permis de confirmer l'hypothèse formulée précédemment, selon laquelle cet acide aminé appartiendrait à la série "érythro". En effet, les acides p.nitro-phényl-glycériques auxquels conduirait l'oxydation nitreuse de la p.nitro-phényl-sérine ne sont pas connus et auraient exigé auparavant une synthèse préalable par une voie différente, afin de déterminer les points de fusion des deux racémiques thréo et érythro.

Nous avons pensé alors tourner la difficulté en imaginant une nouvelle synthèse de la p.nitro-phényl-sérine, différente de celle de DALGLIESH et permettant l'obtention du dérivé Thréo(LXVII t). Une telle synthèse est possible par la nitration directe de la β -phényl-sérine thréo, étant donné qu'il a pu être démontré que le traitement par l'acide nitrique, par ex.celui du phényl-sérinol (réf.40) n'entraîne pas de modifica-

tion stéréo-isomérique dans la molécule.

Nous avons opéré la nitration de la phényl-sérine suivant la méthode décrite par ERLÉNMEYER pour la phényl-alanine (réf.41). Une technique de nitration des acides aminés a été également décrite récemment par BLOCK et BOLLING (réf.42): ces auteurs utilisent une solution aqueuse de nitrate de potassium qu'ils introduisent dans la solution sulfurique de l'acide aminé et chauffent ensuite. En opérant suivant cette technique, la phényl-sérine se coupe en benzaldéhyde et bien que ce procédé ait permis à BLOCK et BOLLING d'obtenir des dérivés nitrés de différents acides aminés, il ne paraît pas applicable aux acides oxy-aminés. En utilisant l'acide nitrique concentré ($d = 1,52$) à froid, il y a formation de p.nitro-phényl-sérine, qui se présente sous forme de cristaux jaunes pâle dont le P.F. est le même que celui du dérivé décrit par DALGLIESH (zone de fusion: 188° - 195°) et ne donne pas d'abaissement par mélange avec celui-ci, mais avec la phényl-sérine de départ. Les spectres d'absorption dans l'U.V., mesurés en solution aqueuse au spectrographe Beckmann, donnent les mêmes maxima $272 m\mu$) et des courbes qui se superposent; enfin les titrages par la méthode Sørensen effectués comparativement sur la β -phényl-sérine et le dérivé p.nitré montrent que la nitration s'est bien effectuée et que l'acide aminé recherché cristallise, comme la phényl-sérine, avec 1 mol. d'eau (réf.43).

<u>Titrages SÖRENSEN</u>	<u>Calculé</u>	<u>Trouvé</u>
1°- PHENYL-SERINE	pr: $C^9H^{11}O^3N + H^2O$:	
	<u>P.M.</u> 199	200
2°-P.NITRO-PHENYL-SERINE (procédé DALGLIESH)	pr: $C^9H^{10}O^5N^2, H^2O$:	
	<u>P.M.</u> 244	244

Titrages SØRENSEN

Calculé

Trouvé

3°- P.NITRO-PHENYL-SERINE

(procédé décrit ci-avant) P.M. 244

245

Il ressort des résultats précédents et des contrôles effectués, que la p.nitro-phényl-sérine peut être préparée par nitration directe de la phényl-sérine et que, d'après les considérations théoriques exposées ci-dessus, le dérivé formé devrait appartenir à la série "thréo" puisqu'il provient du dérivé non nitré, lequel contient cette forme isomère. Les essais biologiques réalisés avec les deux isomères semblent, d'ailleurs, plaiser en faveur d'une différence dans le comportement de E.coli. Seul le dérivé supposé "thréo" fait apparaître un antagonisme par la phenylalamine antagonisme non retrouvé avec l'acide aminé préparé selon DALGLIESH (réfr.44)

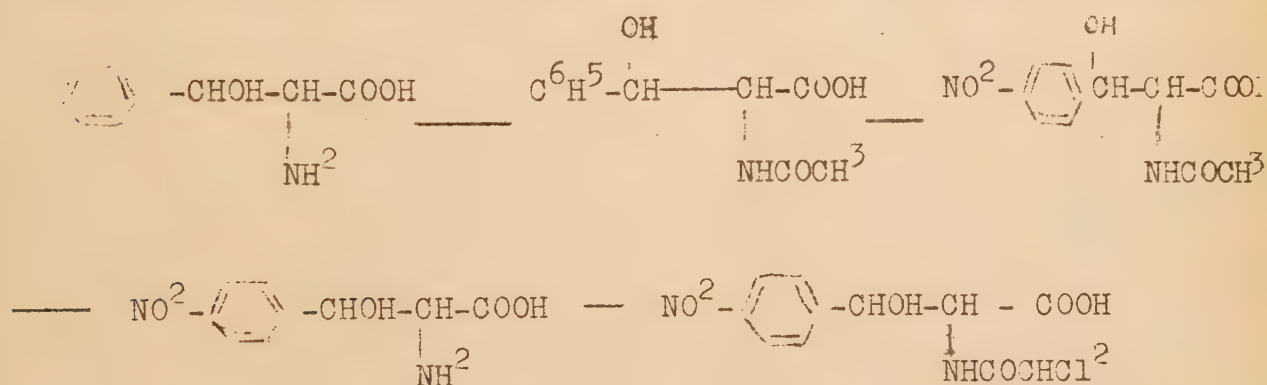
4°) N- DICHLORACETYL- P.NITRO-PHENYL-SERINES -

Afin d'apporter une première preuve à l'hypothèse précédente, nous avons préparé les deux dérivés dichloracétylés respectifs des acides aminés. Les deux dérivés que nous avons obtenus se présentent sous la forme de feuillets blancs, mats, assez solubles dans l'eau dans lequel ils sont recristallisés. Le point de fusion est de 176° pour les deux dérivés; toutefois celui obtenu à partir de l'isomère thréo après plusieurs recristallisations présente un P.F. légèrement plus haut (178°) tandis que l'ester supposé erythro conserve son P.F. 176°.

Au point de vue bactériostatique, ces deux dérivés,

quoique très proches du chloramphenicol sont inactifs (test sur *Shigella p.dysenteriae*, bacille de Sonn)

Quelque temps après avoir terminé la préparation des dérivés dichloracétylés précités, nous apprenions que les mêmes substances avaient été préparées aux U.S.A. par le Dr.WOOLLEY qui a réuni, dans une récente publication du J.B.C., ses travaux relatifs aux analogues structuraux de la chloromycétine (réf. 49). Cet auteur a fait la synthèse de la N-dichloracétyl-phényl-sérine (LXXVI) à partir de la phényl-sérine (technique d'ERLENMEYER), c'est-à-dire par la même méthode que celle que nous avons utilisée; il donne comme point de fusion de cette substance 158° - 164° (légèrement inférieur à celui que nous avons observé: 176°). Quant au dérivé p.nitré(LXV), il a tenté de le préparer par condensation du glucocolle et de l'ald.p.nitrobenzoïque, opération qui ne donne pas de résultat satisfaisant, ainsi que nous l'avions remarqué, malgré plusieurs tentatives opérées dans des conditions différentes. Mr.WOOLLEY a donc cherché une autre voie et a préféré effectuer la nitration de la phényl-sérine après acétylation de la fonction alcool secondaire, c'est-à-dire selon l'enchaînement de réactions suivantes:



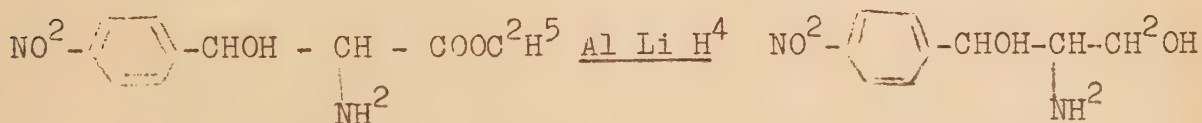
Le point de fusion indiqué par cet auteur est un peu inférieur au nôtre (réf.50).

Dans ces conditions, le dérivé obtenu est inactif.

La synthèse de ces dérivés a été également confirmée plus tard par un travail de E.D.BERGMANN qui, à l'aide de nos données, a pu reproduire l'isomère dichloracétylé de la paranitro phenylserine de DALGLIESH (réf.51) ainsi que HUEBNER et SCHOLZ (réf.87). Ajoutons enfin en ce qui concerne ces dérivés dichloracétylés que le titrage SØRENSEN montre bien que la fonction amine a été bloquée puisque l'addition de formol neutralisé ne libère pas de nouvelle acidité (dosages effectués au laboratoire pour contrôle du produit).

5°) CONFIGURATION STERIQUE DE LA PARA-NITRO-PHENYL-SERINE

Les résultats biologiques de différenciation entre les deux para-nitro-phenyl-serines(43) nous ont incité à vérifier l'hypothèse selon laquelle l'isomère de DALGLIESH appartient à la série erythro, tandis que celui d'ERLENMEYER répondrait à la configuration thréo. Nous avons essayé de réaliser une démonstration chimique en réduisant l'ester éthylique de DALGLIESH en amino-diol au moyen de l'hydrure double de lithium et aluminium selon:



(LXXVII)

Le composé obtenu (LXXVII) étant déjà connu dans les deux séries thréo(précurseur de la chloromycétine) et erythro (réf.35). Cette opération risquait de réduire en même temps le

le groupe NO^2 en NH^2 , d'autant plus que KARRER qui a utilisé le premier cette réaction (inspirée de BARROW, réf.56) pour préparer des alcools aminés à partir des esters correspondants utilise un large excès de réactif lithio-aluminique (réf.55).

Malheureusement nous n'avons pu réussir à isoler aucun produit cristallisé et cette méthode a dû être abandonnée; plus tard, BERGMANN, BENDAS et TAUB (réf.51) ont rencontré les mêmes difficultés au cours de la même tentative de réduction et bien que ces auteurs aient annoncé avoir obtenu un produit qui leur permettrait de conclure à la configuration Thréo pour la paranitro-phenylserine de DALGLIESH, il a été prouvé depuis que ces résultats sont erronés. En effet, divers chimistes, ont apporté plusieurs preuves montrant que l'isomère de DALGLIESH est bien erythro tandis que celui d'ERLENMEYER est thréo : KOPP, LARRAMONA et WELVART en comparant le dérivé obtenu selon DALGLIESH avec un isomère authentique d'erythro paranitro β phenylserine dont ils ont élaboré un nouveau mode de synthèse (réf.39) ont pu prouver l'identité des deux composés et montrer que l'acide aminé de DALGLIESH s'apparente à la configuration erythro (réf.60).

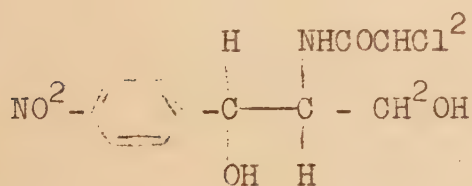
ALBERTI, CAMERINO et VERCELLONE ont repris récemment le travail que nous venons de décrire, à savoir la comparaison des deux dérivés synthétisés selon DALGLIESH, puis par nitration de la phenylserine d'ERLENMEYER. Ces auteurs ont fait un certain nombre de dérivés, acétylés et dichloracétylés des esters éthyliques de ces acides aminés et ont trouvé des valeurs différentes pour les deux séries. thréo et erythro (réf.57); O.HOLLAND et DAVIS, effectuant ces mêmes synthèses (91) ont déterminé les valeurs de R_F (vitesses de migration des taches obtenues avec la ninhydrine sur papier Whatman, pour les deux acides aminés; ces auteurs ont trouvé les deux valeurs

C O N C L U S I O N S

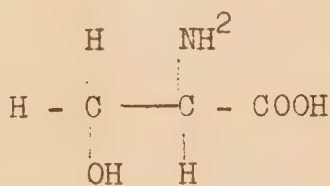
Au cours de ce travail, nous nous sommes attaché à l'étude de quelques substances présentant une relation structurale avec le chloramphenicol, et susceptibles, à ce titre, d'exercer une action vitaminique ou anti-vitaminique vis à vis d'organismes vivants donnés.

Nous avons mis en évidence cette relation structurale par des méthodes chimiques synthétiques ou des tests biologiques qui nous ont permis de dégager les faits suivants:

1°)- Parmi tous les acides aminés, la D.serine ainsi que ses dérivés phénylé et para-nitro-phénylé est celui dont l'analogie de structure avec la chloromycétine est la plus frappante et la plus réelle.



chloromycétine



D.serine

2°)- Nous avons pu démontrer que la β phénylserine d'ERLENMEYER, (seul isomère connu et préparé au moment où nous avons entrepris ce travail) s'apparente à la série thréo et possède de ce fait, la même configuration que la chloromycétine .

3°) - La para-nitro-prényl serine dont un seul isomère était mentionné dans la littérature (réf.43) a attiré notre attention par le fait que cet isomère ne provoque pas le retard de croissance sur E.coli observé avec la thréo 3 phenylserine précédemment étudiée. Nous avons alors émis l'hypothèse que cet isomère répondrait à la configuration erythro.

4°) Nous avons édifié une nouvelle synthèse de la para-nitro-prénylserine conduisant à l'acide aminé sous sa forme thréo. Ce nouvel isomère s'est révélé biologiquement, différent de l'isomère déjà connu, par l'antagonisme qu'il présente avec la phenyl-alanine entre certaines limites de concentrations (réf.44).

5°) Nous avons préparé les dérivés dichloracétylés de la 8 oxenylserine thréo et de la paranitrophenylserine thréo et erythro. Bien que ces dérivés se soient révélés inactifs du point de vue antibiotique, ils méritaient d'être préparés, étant donné leur parenté structurale avec le chloramphénicol. Nous faisons remarquer que ces différentes synthèses furent toutes reprises ensuite par de nombreux auteurs étrangers (mentionnés au cours du travail) qui sont venus confirmer la réalité des substances que nous avons obtenues et des hypothèses émises sur les configurations supposées.

Al début de ce travail, aucune autre équipe, à notre connaissance n'avait abordé le problème des phenylserines du point de vue stérique.

La préparation de ces acides aminés et l'étude de leurs possibilités de réaction permettra certainement de pénétrer profondément le problème du métabolisme de la chloromycétine ainsi que sa biogenèse dans les champignons qui en font la

synthèse. Une ébauche de ce travail a été déjà effectuée par SMITH et WORREL (réf.94) qui ont pu mettre en évidence la présence de paranitrophenylserine dans les filtrats de culture des germes traités par le chloramphenicol. Cet acide aminé représente peut-être le premier terme de dégradation de l'antibiotique in vivo dont il permet une élimination sous une forme moins toxique. Divers faits plaident en faveur d'une telle hypothèse dont le mécanisme , encore incertain, appelle de nouvelles expériences.

-:-:-:-:-:-:-:-

PARTIE EXPERIMENTALE

P. NITRO-BENZOYL-METHOXY-METHYL-MALONATE d'ETHYLE(XXVIII) :
C¹⁶H¹⁹O⁸N

Dans un ballon à trois tubulures contenant 37 g.de méthoxy-méthylène-malonate-d'éthyle, préparés selon SIMONSEN (réf.62), et refroidis par un bain de glace, sont ajoutées alternativement à l'aide de deux ampoules à brôme des solutions d'éthylate de sodium(3,5 g.de Na dans 100cc. d'alcool absolu) et de chlorure de p.nitro-benzoyl (28,5g.dans 600cc. d'éther anhydre). L'addition se fait à + 5° dans les conditions suivantes:

Ethylate de sodium	: 60 cc.
puis, Chlorure de P.N.B.	:300 cc.
ensuite, repos d'une demi-heure.	
Ethylate de sodium	: 30 cc.
puis, Chlorure de P.N.B.	:150 cc.
ensuite, repos de 10 minutes.	

Enfin, Ethylate de sodium: restant de la solution puis chlorure de P.N.B.: restant de la solution. Le mélange réactionnel est abandonné pendant 2 heures, puis chauffé au reflux pendant 1 heure. Après refroidissement, la solution est versée sur la glace sulfurique. La couche étherée est lavée à l'eau, séchée, et le solvant est évaporé au B.M., puis sous vide pour

éliminer les dernières traces. Il reste un solide blanc, mi-huileux, mi-solide, qui est recristallisé dans l'alcool. Les paillettes crème, formant des écailles qui en résultent, fondent très bas (42°) et donnent un abaissement par mélange avec (LXI)

Rendement : 5g.

Analyse : calculé pour $C^{16}H^{19}O^8N$:	C	H
	54,4	5,60
trouvé	55,5	4,42

(chiffres incorrects indiquant, sans doute, une décomposition)
(cf. réf. 96)

ACIDE THREO- β -PHENYL-GLYCERIQUE (LXXV t): $C^9H^{10}O^7$) -

3g. de β -phényl-sérine, préparée selon la méthode de FORSTER et RAO (37), sont dissous dans 30 cc. d'eau; à cette solution sont ajoutés 4,9 g. de nitrite de baryum mono-hydraté dissous dans 30 cc. d'eau. Le ballon est alors mis dans un bain de glace et, par une ampoule à brôme et en agitant mécaniquement, sont additionnés, goutte à goutte, 41 cm³ de $SO^4H^2 N$, soit un peu plus que la quantité théorique. Cette addition dure 1/2 h. Le précipité de SO^4Ba qui se forme est essoré et le filtrat est concentré sous vide jusqu'à consistance sirupeuse. Le résidu est repris par l'alcool absolu puis évaporé sous vide. Finalement, le produit est dissous dans 3 cc. de ce même solvant, filtré et mis à la glacière. Après plusieurs jours, il se forme des cristaux d'acide β -phényl-glycérique.

F: 141° (érythro; F: 122°)

PHENYL-HYDRAZIDE de l'acide THREO- β -PHENYL-GLYCERIQUE: $C^{15}H^{16}O^3N^2$

Le sirop obtenu précédemment par concentration de la solution alcoolique d'acide phényl-glycérique est mis dans un ballon avec un poids sensiblement égal de phényl-hydrazine et

chauffé au reflux pendant 1/2 h. au bain d'huile à 130°. Après refroidissement, la masse solide qui s'est formée est recristallisée dans l'alcool et donne des cristaux jaunes, fondant à 215° et 217°, ainsi que l'indiquent PLÖCHL et MAYER (réf.46): (érythro F: 177°)

P.NITRO-PHENYL-SERINE(LXVII)C⁹H¹⁰O⁵N² -

5 g.de phényl-sérine sont dissous par léger chauffage dans 60 cc. d'acide sulfurique concentré et refroidis par un mélange glace-sel à 0°. Une solution de 1,7g.d'acide nitrique (d= 1,52) est alors ajoutée goutte à goutte tandis que le mélange est agité mécaniquement. L'opération dure 10 minutes. Après repos de 2 heures, le produit est versé sur la glace et la solution aqueuse résultante est neutralisée par des additions progressives de carbonate de plomb jusqu'à fin du dégagement de CO². Le sulfate de plomb est essoré au fur et à mesure et le filtrat neutre, soumis à un courant de H²S, qui achève de précipiter l'ion Pb sous forme de sulfure noir insoluble; celui-ci est séparé par filtration et le liquide clair est concentré sous pression réduite, jusqu'à apparition de cristaux de p.nitro-phényl-sérine, qui augmentent par abandon de la solution à la glacière. L'acide aminé, recristallisé deux fois dans l'eau et traité par le charbon animal, se présente sous forme de cristaux crème, fondant à 192°- 195° et ne donnant pas d'abaissement par mélange avec un échantillon de p.nitro-phényl-sérine préparé selon la méthode de DALGLIESH.

Titrage(SÖRENSEN): pour C⁹H¹⁰O⁵N²,H²O: calculé:P.M.: 244
trouvé : - : 244

(voir titrages comparatifs de la phényl-sérine page 54).

N-DICHLORACETYL-PHENYL-SERINE(LXXVI):C¹¹H¹¹O⁴NCI² :

5 g. de β phényl-sérine sont dissous dans une solution alcaline de 2^g,5 de soude dans 30 cc.d'eau(soit 2,5 mol. de soude pour 1 mol. de l'acide aminé). La solution est refroidie à 0° + 5° et 3,6g.de chlorure de dichloracétyle fraîchement distillé sont ajoutés, goutte à goutte, tandis que le mélange est agité mécaniquement et maintenu dans un bain de glace. Après l'introduction, qui dure environ une heure, l'agitation est poursuivie pendant 10 minutes encore et la solution, qui doit toujours rester alcaline pendant la dichloracétylation, est neutralisée par HCl 5N.

Le produit est extrait deux fois à l'éther, celui-ci est chassé sous vide et le résidu est recristallisé dans l'eau.

Rendement: 3 gr. P.F.: 170°

Analyse: pour C ¹¹ H ¹¹ O ⁴ NCI ²	calculé:	C % 45,7	H % 3,7
	trouvé :	45,41-45,17	3,70-3,57

N-DICHLORACETYL-P.NITRO-PHENYL-SERINE(LXV):C¹¹H¹⁰O⁶N²Cl²

0,244 g.de p.nitro-phényl-sérine sont dissous dans une solution alcaline de 0,1g.de soude dans 3cc.d'eau et traitée selon la technique précédente par 0,15g.de chlorure de dichloracétyle. Le produit est recristallisé deux fois dans l'eau.

Rendement: 0,1g - F.: 176°(pour les deux produits préparés à partir des deux échantillons de p.nitro-phényl-sérine de provenance différente) .

Analyse : pour $C^{11}H^{10.6}N^2Cl^2$

	C%	H%
calculé :	39,5	2,97
trouvé :	39,31 - 39,26	3,09 - 3,09

=====

- R E F E R E N C E S -

- (I) WOODS, D. D. Brit.J.exp.Path.(I940)2I;74-89 et 38-63
- (2) FILDES, P. Lancet(I940) I, 955
- (3) KUHN , R. Die Chemie,(I942) 55; I à 20
- (4) JOHNSON, O.H., GREEN, D.E et PAULI R.; J.B.C.(I944)I53,37-47
- (5) BOREK, MILLIER, SCHEINESS, WAELSCH, Arch.Biol.I4, I43, I7
- (6) WOOLLEY, D.W. Science, I00, 579-83 (I944)
- (7) WOOLLEY, D.W. Harvey Lectures Ser.4I, I89-2I5 (I946)
- (8) WOOLLEY, D.W. Advances in Enzymol. 6, I29-I46 (I946)
- (9) WOOLLEY, D.W. Phys.rev. 27, 308-33 (I947)
- (IO) WELCH, A.D. Phys.rev.25, 687-7I5 (I945)
- (II) ROBLIN, R.O. Chem.Rev. 38, 255-377 (I946)
- (I2) ILWAIN, H.Mc. Brit.J.exp.Path.(I94I)22; I48-I55
- (I3) RAVEL, J.M. et SHIVE, W; J.Biol.Chem.(I946)I66;407-4I5
- (I4) NOVELLI et LIPPMANN Fed.Proc.7, I77(I948)
- (I5) ERLÉNMEYER et LEHMANN; Experientia,(I949)V/I2.472
- (I6) LEHMANN, BRETSCHER, KÜHNE, SORKIN, ERNE et ERLÉNMEYER; Helv.
XXXIII, (I950)I2I8
- (I7) HOROWITZ, N.H. J.B.C.(I948)I74, 37I-78
- (I8) SHIVE et MACON J.B.C.(I946)I62, 45I-62
- (I9) BEERSTECHER et SHIVE; J.B.C.I64, 53-6I (I946)
- (20) DREA J.bact., 56(I948)257-58
- (2I) THOMPSON, WILKIN Proc.Soc.Exprt.Biol.Med.68, 434-36(I948)
- (22) MEINKE, HALLAND J.B.C. I73, 729-36 (I948)
- (23) GROSSOWICZ J.B.C. I73, 729-36 (I948)
- (24) BONNER J.B.C. I66, 545-54
- (25) BOREK, MILIER, SCHEINESS, WAELSCH; J.B.C.I63, 347 (I946)
- (26) WAELSCH, OWADES, MILIER, BORER; J.B.C. I66, 273 - 8I (I946)
- (27) M.VISCONTINI, K.ADANK, Helv.(I952) XXXV , I342

- (59) Dr.R.CLEMENT Données sur les enterobactériacées,
Feuillets du Praticien(I950)9I-I-4(I2)
- (60) M.KOPP,H.LARRAMONA,Z.WELVART; C.R.(I95I)233,527-529
- (6I) L.LONG,H.TROUTMAN J.Am.Chem.Soc.(I949)7I,2473
- (62) SIMONSEN Soc.(I908)93,I777
- (63) BÜLOW et HAILER B (I902)35,93I
- (64) PERKIN et BELLENOT Soc.49,449
- (65) ORG.SYN. Coll.Vol. I,266
- (66) GRANÄCHER Helv.(I925)8,872
- (67) D.HOLLAND et O.JENKINS; Chem.and Ind.(I952)7
- (68) G.W.MOERSCH,M.C.REBSTOCK,A.C.MOORE,D.P.HYLANDER; J.Am.Chem.
Soc.(I952) 74, 565
- (69) C.MENTZER,P.MEUNIER,L.MOLHO-LACROIX,D.BILLET; Bull.Soc.Chim.
Biol.(I950)XXXII, I-2 p.55-65
- (70) ERLÉNMEYER,FRÜHSTUCK;A.284,4I,45; B(I906)39,792
- (7I) FORSTER,RAO Soc.(I926),I29,I947
- (72) ROSENMUND,DORNSAFT B.(I9I9)2,I734
- (73) D.BILLET Stéréochimie des β Phenylserines, Bul.Soc.
Chim.(I952)34 D.
- (74) M.VISCONTINI travail non publié(communiqué privé)
- (75) E.FOURNEAU et BILLETER; Bl 5 ,7 (I940)599
- (76) ÖSTERLIN Metallbörse, 5 Juin I929
- (77) MEYER et ROSE J.Biol.Chem.(I936)II5,72I
- (78) P.A.LEVENE Chem.Rev.(I926)2,I79
- (79) W.BOLHOFER J.Am.Chem.Soc.(I952)74,5460
- (80) PLÖCHL et MAYER B.30,I60I
- (8I) RIBER B.4I,24 B
- (82) LIPP B.I6,I287
- (83) D.BILLET C.R.Acad.Sci.(I950)II,I074(Séance du I3
Mars I950)
- (84) A.DORNOW,G.WINTER Chem.Ber.(I95I)84.307
- (85) H.FELKIN C.R.Acad.Sci.(I950)230,304
- (86) G.CARRARA,E.PACE It.Pat.Appl. I6.707,Febr.5 (I952)
- (87) C.F.HUEBNER,C.R.SCHOLZ; J.Am.Chem.Soc.(I95I)73,2089

- (88) W.S.FONES Arch.Bioch.(1952)36,486
- (89) E.D.BERGSMANN, GENAS, H.BENDAS, C.R.(1950)231,290
- (90) GER.PAT 632,424
- (91) O.HOLLAND, P.A.JENKINS; Chem.Ind.(1951)1092-1093
- (92) I.FELKIN, H.FELKIN, Z.WELVART; C.R.Acad.Sci.(1952)235,1510
- (93) SMITH, C.WORREL Arch.Bioch.(1950)28,232
- (94) K.SHAW, S.FOX Iowa State College, lettre du 17.8.1950
- (95) ALBERTI et coll. La Chimica & l'Industria(1949)31,351
- (96) VISCONTINI et FUCHS, Helv.- sous presse.

=====

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
INTRODUCTION	I
 <u>CHAPITRE I</u>	
Essais de Synthèse du Chloramphenicol.....	I3
 <u>CHAPITRE II</u>	
Phenyl-serines et dérivés substitués	23
CONCLUSIONS	40
PARTIE EXPERIMENTALE	43
REFERENCES	48
TABLE DES MATIERES	52

DEUXIEME THESE

- PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

" CONDENSATION DES COMPOSES CARBONYLES
AVEC L'ACIDE SUCCINIQUE "

VU:

Les Membres du Jury ,

M.M. D. CORDIER

J. COLONGE

C. MENTZER

Vu et approuvé:

Le Doyen de la Faculté des Sciences
de LYON ,

R.DOUIN

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 23 JUIN 1953

Le Recteur,

Président du Conseil de l'Université

A. ALLIX

